

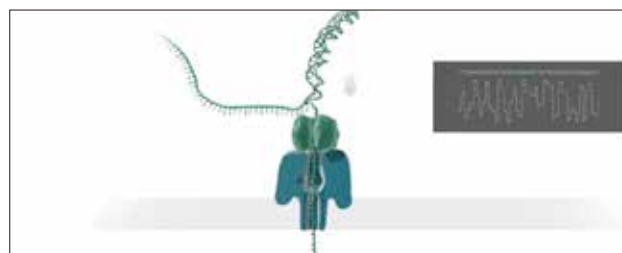
# Nanopore

## ナノポアシーケンス受託サービス

Oxford Nanopore Technologies社の最新ナノポアシーケンサーを用いた各種シーケンス受託シーケンスサービスを提供します。

### ナノポアシーケンサーの原理

Oxford Nanopore Technologies社が提供するシーケンサーは、DNA分子やRNA分子がポリマー製の膜に埋め込まれたタンパク質ポアを通過する際に起こる電流の変化を計測することで、塩基配列を同定します。既存のシーケンサーで使用されていた蛍光色素やDNAポリメラーゼを使用しないことから、装置の小型化に成功するとともに、比較的少量のサンプルから非常に長い配列が得られることが特徴です。



### 利用可能な機種 (2020年6月現在)

#### GridION X5システム

ポータブルシーケンサーMinIONと同じフローセルを1度に最大5セルまでランすることができます。1セルあたりのスループットはMinIONと同等で、サンプルにより、およそ3~20Gbpです。

#### PromethIONシステム

1セルあたりのスループットは、GridIONを大きく上回り、およそ20~120Gbpです。最大48セルを搭載でき、同時に24セルまでのランが可能な最上位機です。



GridION X5システム



PromethIONシステム

### 提供サービス

#### ・全ゲノムシーケンス

DNAサンプルを提出いただき、ライブラリー調整およびGridIONシステムまたはPromethIONシステムによるシーケンシングを行います。ライブラリー調整は、ライゲーションによりアダプターを付加する1Dキット、1D<sup>2</sup>キット、トランスポゼースによりアダプターを付加するRapidキットが利用可能です。

#### ・全トランスクリプトームシーケンス

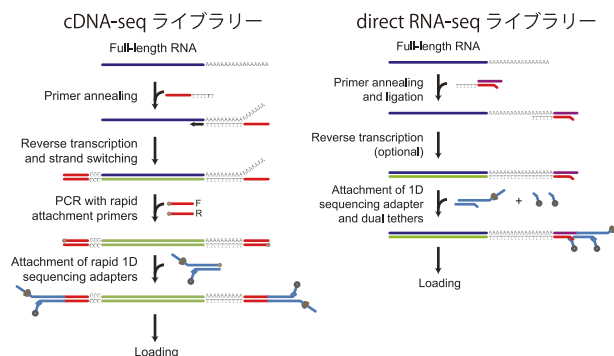
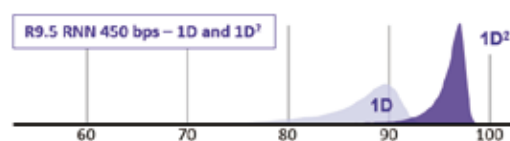
##### (1) cDNA-seq

Total RNAサンプルを提出いただき、Oligo(dT)プライマーを用いたRT-PCRとPCR反応による完全長cDNA合成を行います。得られたcDNAにアダプターを付加し、1Dキットによるシーケンシングを行います。cDNAサンプルの提出による受け入れも可能です。

##### (2) direct RNA-seq

Total RNAサンプルを提出いただき、Oligo(dT)プライマーを用いたRT-PCRにより1st strand cDNA合成を行います (オプション)。  
アダプターを付加し、1Dシーケンシングにより、RNA鎖側を読み取ります。RNA分子を直接読み取るため、RNA配列の塩基修飾も原理的に検出可能です。

1Dと1D<sup>2</sup>の塩基配列決定精度の比較



# アプリケーション

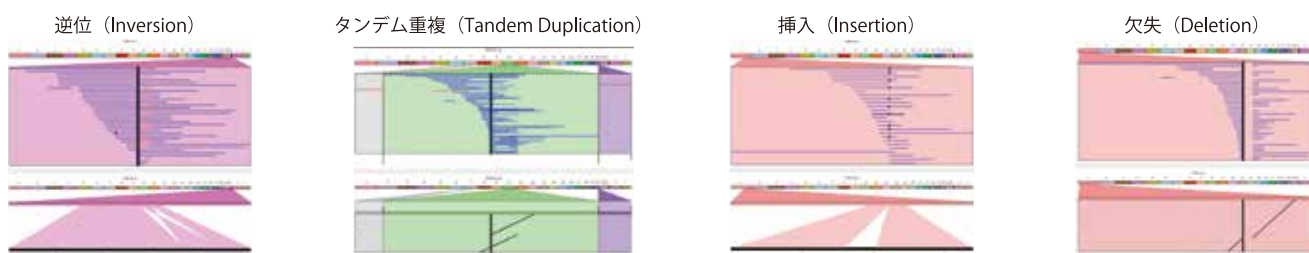
## ・ de novoアセンブリー解析

ナノポアのロングリードシーケンスは、新規ゲノム配列決定に最も威力を発揮します。細菌ゲノムや真菌ゲノムだけでなく、昆虫、魚類、植物、哺乳動物などの高等生物においても長いコンティグ配列を得ることができます。

細菌ゲノムにおいては、GC 含量 30% 以下や 70% 以上の難読ゲノムについても次々に完全長解読に成功しており、真核微生物においても、解析の工夫により、麴菌のすべての染色体について、ギャップなしで全長解読を達成できています。

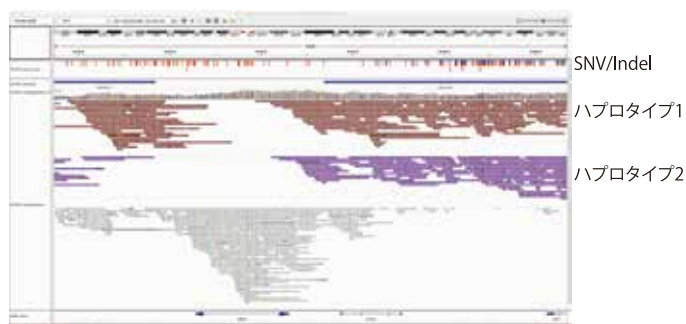
## ・ 構造変異解析

ロングリードシーケンスは大きな構造変異の検出にもとても有効です。参照ゲノム配列にロングリード配列をアラインメントすることで、逆位 (Inversion)、タンDEM重複 (Tandem Duplication)、挿入 (Insertion)、欠失 (Deletion)、転座 (Translocation) といった構造変異を検出することができます。



## ・ ハプロタイプフェージング

ショートリードシーケンスにより検出した小さなSNV/Indelについて、ナノポアのロングリードを用いて、フェージングを行います。複数のヘテロ接合型のSNV/Indelについて、それぞれの相同染色体が、どのようなアレルの組み合わせを持つことができるのかを知ることができます。トランスクリプトームシーケンスデータを利用すれば、アレル特異的な遺伝子発現を調べることも可能です。



ナノポアリードを用いたSNV/Indelのハプロタイプフェージング結果

## ・ 塩基修飾 (メチル化解析)

DNA分子やRNA分子がナノポアを通過した際のシグナルのずれにより、塩基の修飾状態を検知することも原理的に可能です。PCR増幅をかけないナノポアシーケンシングのメリットのひとつといえます。

## ・ 全トランスクリプトームシーケンス

### (1) cDNA-seq

完全長 cDNA を選択的に増幅・調整した cDNA ライブラリーからロングリードシーケンスを得ることで、転写された遺伝子配列の全長を知ることができます。複数のエクソンがどのような組み合わせで転写配列に使用されているかが一目瞭然です。



ヒトCHD3遺伝子座におけるcDNA-seqのマッピング結果

### (2) direct RNA-seq

RNA 分子をそのままシーケンスすることができるため、PCRバイアスの影響を受けずに転写配列を網羅的に調べることができます。エクソンの組み合わせだけでなく転写配列の方向性も区別できます。RNA のメチル化などの塩基修飾も原理的に検出可能です。



ヒトCHD3遺伝子座におけるdirect RNA-seqのマッピング結果